

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. April 2003 (10.04.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/028736 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/66,
9/127, A61P 35/00, 3/02, 33/04, 33/14, 31/04, 27/02,
A61K 31/7048

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/10882

(22) Internationales Anmeldedatum:
27. September 2002 (27.09.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 48 067.9 28. September 2001 (28.09.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.
[DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): EIBL, Jörg [DE/DE];
Heinrich-Deppe-Ring 22, 37120 Bovenden (DE).

(74) Anwälte: WEICKMANN, Franz, Albert usw.; Weick-
mann & Weickmann, Postfach 860 820, 81635 München
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: HEAT-STERILISABLE ALKYLPHOSPHOCHOLINE LIPOSOMES

(54) Bezeichnung: HITZESTERILISIERBARE ALKYLPHOSPHOCHOLIN-LIPOSOME

(57) Abstract: The invention relates to a novel pharmaceutical formulation comprising phospholipid or alkyl phosphocholine com-
pounds in liposomes which can be sterile filtered or/and heat-sterilized. The pharmaceutical formulation is particularly suitable for
stimulation of leucopoiesis and for treatment and/or prophylaxis of tumour diseases and protozoan diseases in particular leishman-
ioses, amoebic diseases, acarinosi, diseases caused by arthropods and bacterial diseases such as ehrlichiosis for example.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Arzneimittelformulierung, welche Phospholipid- bzw. Al-
kylphosphocholinverbindungen in sterilfiltrierbaren oder/und hitzesterilisierbaren Liposomen enthält. Die Arzneimittelformulierung
ist insbesondere zur Stimulierung der Leukopoese sowie zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Tumorerkrankungen und Protozo-
enerkrankungen, insbesondere Leishmaniosen und Amöbenerkrankungen, von Akarinosi und Erkrankungen, die durch Arthropoden
verursacht werden sowie von bakteriellen Erkrankungen, wie z.B. Ehrlichiose, geeignet.

WO 03/028736 A2

Hitzesterilisierbare Alkylphosphocholin-Liposome

Beschreibung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Arzneimittelformulierung, welche Phospholipid- bzw. Alkylphosphocholinverbindungen in sterilfiltrierbaren oder/und hitzesterilisierbaren Liposomen enthält. Die Arzneimittelformulierung ist insbesondere zur Stimulierung der Leukopoese
10 sowie zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Tumorerkrankungen und Protozoenerkrankungen, insbesondere Leishmaniosen und Amöben-erkrankungen, von Akarinosen und Erkrankungen, die durch Arthropoden verursacht werden sowie von bakteriellen Erkrankungen, wie z.B. Ehrlichiose, geeignet.

15 Alkylphosphocholinverbindungen haben eine antiproliferative Wirkung und weisen eine gute Wirksamkeit gegen Tumor- und Protozoenerkrankungen auf. Ein großer Nachteil dieser Verbindungen ist jedoch zum einen, dass besonders die Verbindungen mit länger-kettigen Kohlenwasserstoffresten
20 eine schlechte Löslichkeit in wässrigen Lösungen aufweisen, was sie für eine intravenöse (I.V.) Verabreichung und auch für eine orale Verabreichung in Form von Trinklösungen ungeeignet macht. Weiterhin werden die Verbindungen bei oraler Verabreichung oftmals nur schlecht oder überhaupt nicht resorbiert. Zum anderen gehen viele dieser wirksamen
25 Verbindungen mit beträchtlichen Nebenwirkungen einher, sodass sie nicht über längere Zeit in hohen Dosen verabreicht werden können. Die Nebenwirkungen der Toxizität beruhen in großem Maße auf der hämolytischen Wirkung der Verbindungen.

30 Protozoen sind einzellige Lebewesen, von denen einige pathogene Parasiten sind. Zu den häufigsten Vertretern, die den Menschen befallen, gehören Plasmodien (Malaria), Trypanosomen (Schlafkrankheit), Amöben, z.B.

- 2 -

Entamoeben und Acanthamoeben (Amoebenruhr, Encephalitis), und Leishmanien (Leishmaniose).

Als Leishmaniosen werden verschiedene Tropenkrankheiten bezeichnet, welche durch Protozoen der Gattung Leishmania hervorgerufen und durch blutsaugende Insekten übertragen werden. Zur Zeit sind drei Leishmania-Arten bekannt, welche sehr unterschiedliche Krankheitsbilder hervorrufen: "Kala-Azar" mit Affektion von Milz und Leber, die "Orientbeule" mit entzündlichen Reaktionen an der Haut und "Espundia" mit Erscheinungen auch an den Schleimhäuten des oberen Atem- und Verdauungstraktes. Der Verlauf aller drei Krankheiten ist weniger charakteristisch als bei anderen Protozoenerkrankungen und verläuft vielfach schleichend. Die Inkubationszeit kann Wochen und sogar Monate betragen. In unbehandelten Fällen werden oft sehr hohe Mortalitätsraten beobachtet.

Die Therapie von Leishmaniosen stützt sich im wesentlichen noch auf altbekannte Antimonpräparate, vor allem Stibogluconat-Natrium (Pentostam). Die Behandlung wird meist über zwei bis drei Wochen durchgeführt, muss dann jedoch für eine bis zwei Wochen unterbrochen werden, weil häufige Nebenwirkungen sonst ein bedrohliches Ausmaß erreichen und irreversibel werden könnten. Die Nebenwirkungen umfassen Magen-Darm-Reizungen, Kreislaufstörungen bis zum Schock und Leberparenchymschädigung. Als weiterer Nachteil hat sich herausgestellt, dass es bereits Leishmania-Stämme gibt, welche Antimon-resistent sind. Als weitere Pharmaka werden aromatische Diamidine, Pentamidin und Amphotericin B eingesetzt. Diese Mittel werden allerdings meist nur in Kombination mit Antimonverbindungen eingesetzt, darüber hinaus weisen sie ebenfalls beträchtliche Nebenwirkungen auf.

Als Amöben, die den Menschen befallen können, sind insbesondere die folgend genannten von Bedeutung. *Entamoeba histolytica* verursacht beim Menschen Dysenterien und Leberabszesse. Der Erreger ist in vielen Ländern

dieser Welt sehr häufig, er verursacht etwa 36 bis 50 Millionen Erkrankungsfälle pro Jahr mit zwischen 40.000 und 110.000 Todesfällen. Der Lebenszyklus ist einfach, die Infektion erfolgt über Zysten, die mit verunreinigtem Wasser oder verunreinigten Nahrungsmitteln aufgenommen werden. Die Zysten passieren den Magen unverändert und exzystieren im Dickdarm, wobei aus jeder Zyste vier Trophozoiten, die eigentlichen Amöben, entstehen. Im Enddarm enzystiert sich wieder ein Teil der Trophozoiten und bildet so die Dauerformen aus, die außerhalb des Menschen überleben können. Im Dickdarm können die Trophozoiten einerseits leben, ohne großen Schaden anzurichten, aber sie können auch die Darmwand angreifen. Dabei können kleine Schleimhautläsionen, aber auch massiv blutende Ulcera entstehen. Die Folge sind blutige Durchfälle, das Vollbild der Amöbendysenterie. Eine weitere häufige Manifestation der Amöbiasis ist der Amöbenleberabszess. Hier dringen die Amöben aus dem Darm durch die Mesenterialgefäße in die Leber vor und erzeugen dort große Abszesse. Sowohl der Amöbenleberabszess als auch die intestinale Amöbiasis sind unbehandelt massiv lebensbedrohend.

E. histolytica Trophozoiten können ohne den menschlichen Wirt nicht überleben. Im Gegensatz dazu gibt es freilebende Amöben, die in seltenen Fällen im Menschen ernstere Erkrankungen hervorrufen können. Acanthamoeben (z.B. *Acanthamoeba castellanii*, *Acanthamoeba culbertsoni*) können bei Immunsupprimierten eine chronische granulomatöse Enzephalitis verursachen, außerdem gibt es relativ häufig Acanthamoeba-Keratitisfälle bei Kontaktlinsenträgern. *Naegleria fowleri* ist ein freilebender Amöbenflagellat. Er lebt typischerweise in Süßwasser und kann Badende infizieren. Der Parasit dringt über die Nase und die Riechnerven in das Gehirn vor und verursacht eine perakute Meningoenzephalitis. Die Enzephalitisfälle durch Acanthamoeben oder Naeglerien sind extrem selten, haben aber bislang eine extrem schlechte Prognose.

- 4 -

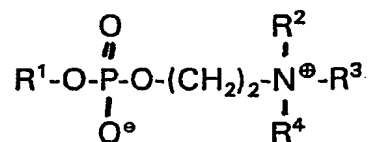
Chemotherapeutika bei *E. histolytica*-Infektionen sind derzeit Nitroimidazole, in erster Linie Metronidazol.

E. histolytica besitzt keine oxidative Phosphorylierung sondern gewinnt
5 seine Energie durch Glykolyse. Bei der Oxidation des Pyruvats zu Acetyl-CoA entsteht in der Amöbe reduziertes Ferredoxin, das in der Lage ist, das Nitroimidazol zu einem Nitrosoimidazol zu reduzieren. Durch diese aggressive Substanz werden die Biomoleküle der Amöbe geschädigt. Der Mensch besitzt kein solch starkes reduzierendes Agens und wandelt das
10 Metronidazol nicht in die giftigere Nitrosoimidazolform um. Bisher gibt es noch keine gesicherten Berichte über die Verbreitung Metronidazol-resistender *E. histolytica* Stämme. Dennoch wird immer wieder von Fällen berichtet, in denen die Metronidazol-Therapie versagt haben soll, und im Labor konnte man schon teilresistente Stämme generieren. Im Falle einer
15 möglichen Resistenzausbildung wäre es sehr wichtig, neue Substanzklassen mit Wirksamkeit gegen *E. histolytica* zu besitzen, da es zur Zeit keine zufriedenstellende Alternative zu den Nitrimidazolen gibt.

Im Gegensatz zu *E. histolytica* besitzen Acanthamoeben und Naeglerien
20 Mitochondrien und können aerob leben. Sie reduzieren Nitroimidazole nicht und deshalb sind diese Verbindungen vollkommen wirkungslos. Acanthamoeben sollen gegen Rifampicin und Paromomycin, Naeglerien gegen Amphotericin B empfindlich sein, dennoch ist erst in wenigen Einzelfällen eine Heilung von Enzephalitiden durch freilebende Amöben
25 gelungen.

In der DE-Anmeldung P 41 32 344.0-41 sind Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels offenbart, welches zur oralen oder topischen Verabreichung bei der Behandlung von Protozoenerkrankungen, insbesondere
30 der Leishmaniose, geeignet ist und das als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen der allgemeinen Formel:

- 5 -



5 worin R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 20 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die
 10 gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist, enthält.

15 Verbindungen dieser allgemeinen Formel zeigten insbesondere bei oraler oder topischer Applikation eine sehr viel höhere Aktivität als Stibogluconat-Natrium. Allerdings traten besonders bei höheren Dosierungen gelegentlich ebenfalls erhebliche Nebenwirkungen auf, wie z.B. Reizung des Magen-Darm-Traktes.

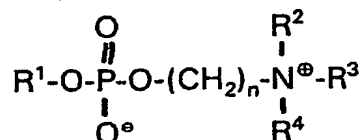
20 Ein weiterer Nachteil der oben genannten Verbindungen besteht darin, dass bisher die intravenöse Gabe von Alkylphosphocholinen mit Kettenlängen von über 21 C-Atomen wegen ihrer geringen Wasserlöslichkeit und von Alkylphosphocholinen mit Kettenlängen von 21 oder weniger C-Atomen
 25 wegen hämolytischer Wirkungen nicht möglich war. In der Vergangenheit wurden Alkylphosphocholin-haltige Mittel zur intravenösen Verabreichung in Liposomen verpackt. Die Liposomen bestanden aus Hexadecylphosphocholin, Cholesterin und Phosphatidylglycerin oder aus Hexadecylphosphocholin, Cholesterin und Phosphatidylpolyethylenglykolen. Die
 30 Herstellung dieser Liposomen ist allerdings sehr aufwendig und teuer, da sie Hochdruckpressen oder ähnliche Verfahren erfordern, und zudem hat

- 6 -

das fertige Produkt den Nachteil, dass es nur sehr schwer steril filtrierbar ist.

PCT/EP01/03609 beschreibt eine Arzneimittelformulierung, welche ein Gemisch ist aus

a) einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 16 bis 24 C-Atomen ist, R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist, n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist als Wirkstoff zu 30 bis 60 Mol-%,

b) Cholesterin und/oder einem Cholesterinderivat zu 25 bis 65 Mol-% und c) einem mindestens eine Oleylgruppe enthaltenden Phosphatidylmonoglycerin oder Phosphatidyloligoglycerin zu 5 bis 15 Mol-%, wobei a), b) und c) zusammen 100 Mol-% ergeben und

d) einem wassermischbaren, physiologisch annehmbaren Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen, der gegebenenfalls Wasser enthält, sowie gegebenenfalls übliche pharmazeutische Hilfsstoffe oder/und Wirkstoffe aufweist, wobei die Komponenten als in Wasser dispergierter Komplex vorliegen.

Durch diese Formulierung werden einige der oben genannten Nachteile überwunden.

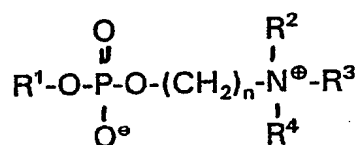
- 7 -

Trotzdem besteht, insbesondere auch aufgrund der Häufigkeit des Auftretens und der damit verbundenen Bedeutung der oben genannten Erkrankungen weiterhin ein großer Bedarf an Arzneimittelzubereitungen, die erfolgreich zur Behandlung oder/und Prophylaxe dieser Erkrankungen eingesetzt werden können.

Eine Aufgabe der Erfindung bestand insbesondere darin, eine hitzesterilisierbare Arzneimittelzubereitung bereitzustellen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Arzneimittelzubereitung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin R¹ ein gesättigter oder ungesättigter, insbesondere ein einfach oder mehrfach ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen, insbesondere mit 16 bis 24 C-Atomen ist, welcher gegebenenfalls ein oder mehrere Heteroatome, ausgewählt aus O, N oder S enthalten kann, R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist, n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, insbesondere zu 25 bis 65 Mol-% und

c) Cholesterylphosphomoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerin, Alkylphosphoglycerin, Alkylphosphooligoglycerin, Alkylphosphoglycol,

- 8 -

Alkylphosphopropandiol-(1,3) oder/und Alkylphosphopropandiol-(1,2) zu 3 bis 30 Mol-%, insbesondere zu 5 bis 15 Mol-%.

5 a), b) und c) ergeben zusammen bevorzugt 100 Mol-%. Der Formulierung können weiterhin ein wassermischbarer, physiologisch annehmbarer Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen, der gegebenenfalls Wasser enthält, sowie gegebenenfalls übliche pharmazeutische Hilfsstoffe oder/und Wirkstoffe zugegeben sein. Die Komponenten liegen bevorzugt als in Wasser dispergierter Komplex vor.

10 Die genannten Komponenten bilden, gegebenenfalls zusammen mit Wasser, überraschenderweise einen in Wasser dispergierbaren Komplex. Liposomen bilden sich in der Regel nur unter Einfluss einer Ultraschall- oder ähnlichen Behandlung, während sich der erfindungsgemäße liposomenartige Komplex
15 ohne äußere Einwirkung bildet und stabil ist. Dadurch können auch andere Wirkstoffe wie z.B. Amphotericin B der Formulierung einverleibt werden.

Es wurde überraschenderweise festgestellt, dass die Verpackung der Wirkstoffe in den erfindungsgemäßen Liposomen erhebliche Vorteile
20 gegenüber den freien Alkylphosphocholinen liefert. Durch die Verpackung in den Liposomen kann insbesondere eine Erhöhung der gewünschten Wirksamkeit und gleichzeitig eine Verringerung unerwünschter Nebenwirkungen erzielt werden. So ist die hämolytische Aktivität bei Verabreichung in liposomaler Form deutlich herabgesetzt, wobei vermutet
25 wird, dass das in den Liposomen vorliegende Cholesterin die hämolytische Aktivität der Wirkstoffverbindungen unterdrückt. Weiterhin wurde bei Verabreichung von liposomalen Alkylphosphocholinen in oraler Form eine deutliche Erhöhung der Resorption beobachtet.

30 Die Erfindung beruht darauf, dass die Wirkstoffe Alkylphosphocholine einfach als substanzielle Bestandteile in Liposomen eingebracht und als liposomale Formulierungen eingesetzt werden können.

Ein weiterer wesentlicher Vorteil der erfindungsgemäßen Liposome besteht darin, dass sie hitzestabil sind und deshalb hitzesterilisiert werden können.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten als Wirkstoff
5 eine Phospholipid-, insbesondere eine Alkylphosphocholinverbindung.

In der Komponente a), dem Phospholipid bzw. Alkylphosphocholin der Formel I, kann der Kohlenwasserstoffrest R^1 15 bis 26 C-Atome enthalten, bevorzugt sind insbesondere 16 bis 24 und stärker bevorzugt 18 bis 22 C-
10 Atome. Besonders bevorzugt ist R^1 ein Alkylrest oder ein einfach oder mehrfach ungesättigter Alkenylrest und insbesondere ein Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosyl-, Hexadecenyl-, Heptadecenyl-, Octadecenyl-(Oleyl), Nonadecenyl-, Eicosenyl-, Elaidyl-, Eicosenyl-cis-(ω -9)-, Heneicosyl-, Heneicosenyl-, Docosyl-, Docosenyl-,
15 Linoleyl-, Linolenyl-, Erucyl- oder Tetracosadienyllrest. Der Kohlenwasserstoffrest kann gesättigt oder einfach oder mehrfach, insbesondere zweifach oder dreifach ungesättigt sein, wobei die Doppelbindung(en) der ungesättigten Reste bevorzugt cis sind. Bevorzugt sind beispielsweise Alkadienyl- sowie Alkatrienylreste. Ist mehr als eine cis-
20 Doppelbindung vorhanden, liegen diese bevorzugt nicht in Konjugation vor. Der Kohlenwasserstoffrest kann verzweigt oder linear sein und ist bevorzugt linear. Besonders bevorzugt sind Nonadecenyl, Heneicosenyl und Oleyl. Am meisten bevorzugt ist eine Verbindung der Formel I mit R^1 = Oleyl-, insbesondere cis-Oleyl-Rest.

25 Verbindungen mit einem ungesättigten Rest R^1 haben den Vorteil, dass sie eine große therapeutische Breite und zugleich eine sehr geringe Toxizität aufweisen.

30 R^2 , R^3 und R^4 sind bevorzugt jeweils Methyl. Beispiele für andere geeignete Reste sind Ethyl-, Propyl-, Butyl- und Pentylreste, Cyclopropyl-, Cyclobutyl-, Cyclopentyl- und Cyclohexylreste, Hydroxymethyl-, Hydroethyl- und

- 10 -

Hydroxypropylreste. Zwei der Reste R^3 können beispielsweise eine Pyrrolidin-, eine Piperidin- oder eine Morpholingruppe bilden. Vorzugsweise ist mindestens einer der Reste R^2 , R^3 und R^4 von Wasserstoff verschieden, besonders bevorzugt sind alle drei Reste von Wasserstoff verschieden.

5

Der polare Bestandteil der Verbindungen der Formel I besteht bevorzugt aus Phosphocholin (PC), d.h. n ist bevorzugt gleich 2. n kann auch 3 oder 4 sein. Überraschenderweise ergab sich besonders bei Verbindungen mit n
10 gleich 3 eine stimulierende Wirkung auf die Leukopoese.

Als Bestandteil a) geeignete und verwendbare Alkylphosphocholine sind z.B. die in EP 0 507 337 oder WP 00/08031 beschriebenen Verbindungen.

15

Bei den Phospholipidverbindungen, insbesondere bei solchen mit kurzen Kohlenwasserstoffketten im Rest R^1 tritt bei herkömmlichen Formulierungen oft ein schädlicher hämolytischer Effekt auf. Dieser wird durch die erfindungsgemäße Kombination wesentlich gemindert. Bei kurzkettigen Resten R^1 mit Kohlenwasserstoffresten mit 15 bis 21 C-Atomen sind daher

20

Cholesterin bzw. Cholesterinderivate im oberen angegebenen Mengenbereich bevorzugt. Es ist somit bevorzugt, einen kleinen Überschuss an Cholesterin bzw. dessen Derivat im Komplex bzw. Liposom zu haben, sodass das Molverhältnis zwischen Verbindung der Formel I und Cholesterin/-derivat bevorzugt 1 : 1-1,2 ist. Für erfindungsgemäße

25

Zusammensetzungen, in denen der als Bestandteil a) eingesetzte Wirkstoff einen Rest R mit ≤ 21 C-Atomen aufweist, beträgt das Mischungsverhältnis bevorzugt 30 bis 45 Mol-% Bestandteil a), 30 bis 60

- 11 -

Mol-% Bestandteil b) (Cholesterin) und 3 bis 30 Mol-% Bestandteil c) (insbesondere Cholesterinphosphoglycerin, Alkylphosphoglycerin oder Alkylphosphoglycol).

5 Bei Verbindungen mit einem Rest R^1 längeren Kohlenwasserstoffketten mit 22 bis 26, insbesondere bis 24 Kohlenstoffatomen besteht weniger das Problem der Hämolyse als das einer geringeren Wasserlöslichkeit. Aus diesem Grund reicht hier ein Molverhältnis von Phospholipidverbindung:Cholesterin/-derivat bevorzugt von 1:0,5-1 aus.

10

Für erfindungsgemäße Zusammensetzungen, in denen als Wirkstoff der Komponente a) eine Verbindung mit $R^1 \geq 22$ C-Atomen eingesetzt wird, beträgt das Mischungsverhältnis der einzelnen Komponenten bevorzugt 30 bis 55 Mol-% Komponente a), 10 bis 40 Mol-% Komponente b) (Cholesterin) und 3 bis 30 Mol-% Komponente c) (insbesondere Cholesterinphosphoglycerin, Alkylphosphoglycerin oder Alkylphosphoglycol).

15

Die Bedingungen für eine gute antineoplastische Wirksamkeit, insbesondere Halbwertszeiten in Organen und Geweben von 50 oder mehr Stunden können durch die oben angegebenen Wirkstoffe erzielt werden.

20

Die Menge an Wirkstoff der Formel I in den erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen beträgt 30 bis 60 Mol-%, bevorzugt mindestens 40 Mol-% bis 50 Mol-%.

25

Als weiteren Bestandteil enthalten die erfindungsgemäßen Liposomen Cholesterin. Unter Cholesterin, wie hierin verwendet, werden Cholesterin selbst sowie Cholesterinderivate verstanden.

30

Die Komponente b), d.h. das Cholesterin bzw. Cholesterinderivat dient auch dazu, die Löslichkeit in wässrigen Lösungen von

- 12 -

Alkylphosphocholinverbindungen gemäß der obigen Definition zu verbessern. Geeignet sind beispielsweise auch cholesterinartige Verbindungen, wie etwa Cholesterinoligoglycerine oder Cholesterinphosphocholin. Bevorzugt sind Cholesterinderivate mit einer hydrophilen Gruppe.

Die Menge an Cholesterin beträgt bevorzugt 25 bis 60 Mol-%; insbesondere 30 bis 60 Mol-%.

Die Komponente c) der erfindungsgemäßen Liposome ist ein negativer Ladungsträger und insbesondere ausgewählt aus Cholesterinphosphoglycerinen, Cholesterinphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2). Bei der Komponente c) handelt es sich insbesondere um Mono-, Di- oder Triglycerinverbindungen. Der Alkylrest der Komponente c) weist bevorzugt 15 bis 24 Kohlenstoffatome auf und ist gesättigt oder einfach oder mehrfach ungesättigt. Bevorzugt wird als Komponente c) eine Verbindung eingesetzt, deren Alkylrest identisch mit R¹ der jeweils verwendeten Komponente a) ist.

Überraschenderweise wurde festgestellt, dass unter Verwendung der vorstehend genannten negativen Ladungsträger Liposome erhalten werden können, die hitzestabil sind und somit hitzesterilisiert werden können. Dies stellt einen beträchtlichen Vorteil gegenüber anderen Liposomformulierungen dar, insbesondere im Hinblick auf eine mögliche intravenöse oder subkutane Verabreichung der Liposome. Bevorzugt werden deshalb solche Liposome nach ihrer Bildung und vor einer Verabreichung hitzesterilisiert.

Vorzugsweise enthält die Arzneimittelformulierung die Bestandteile in einer solchen Menge, dass sie insgesamt eine positive oder negative

Überschussladung aufweist. Dies ist insbesondere bei der Verwendung von (Ether)-Lysolecithinen mit längeren Kohlenwasserstoffketten vorteilhaft. Das Problem einer schlechteren Wasserlöslichkeit bei Verbindungen mit längeren Ketten spielt insbesondere bei einer intravenösen Verabreichung eine Rolle, und in geringerem Ausmaß bei einer oralen Gabe.

Bevorzugt beträgt die Menge an Bestandteil c) 5 bis 15 Mol-%, insbesondere 7 bis 10 Mol-%.

Das molare Verhältnis der einzelnen Bestandteile der erfindungsgemäßen Liposome kann variieren, sodass z.B. die Alkylphosphocholinverbindung der Formel I in einem leichten Überschuss vorhanden ist. Bevorzugt ist jedoch im Allgemeinen ein Verhältnis, das nicht zu weit von 1 : 1 abweicht, z.B. ein molares Verhältnis Wirkstoff der Formel I zu Cholesterin von 1,2:1 bis 0,8:1, insbesondere 1,1:1 bis 0,9:1. Das Cholesterin ist bevorzugt zu 45 bis 55 Mol-%, im Liposom vorhanden.

Der aus den Bestandteilen a), b) und c) gebildete liposomenartige Komplex ist problemlos durch Membranen mit Porendurchmesser $0,8 \mu$, $0,45 \mu$ und sogar $0,2 \mu$ sterilfiltrierbar. Dies stellt einen beträchtlichen Vorteil gegenüber herkömmlichen Liposomen dar, die nicht einfach sterilzufiltrieren sind. Außerdem hat sich überraschenderweise herausgestellt, dass erfindungsgemäße Liposome extrem lagerstabil sind.

Die Komponenten a, b und c stellen zusammen bevorzugt 100 % der erfindungsgemäßen Liposomen dar. Es ist aber auch möglich Liposome zu bilden, welche weitere Hüllbestandteile oder/und eingekapselte Substanzen enthalten. Bevorzugt sind Liposome, die weitere Wirkstoffe in eingekapselter Form umfassen. Zusätzliche Wirkstoffe, welche vorteilhaft in den erfindungsgemäßen Liposomen enthalten sein können sind z.B. Oxytetracyclin, Doxycyclin oder Minocyclin, welche bakterizid wirksam

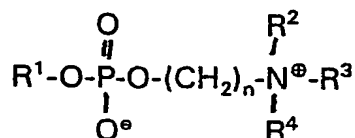
- 14 -

sind; Amphotericin B oder Griseofulvin, welche fungizid wirksam sind sowie Cyclosporin, welches immunsupprimierend wirkt.

Überraschenderweise wurde gefunden, dass ein Gemisch aus Verbindung von Formel I, Cholesterin/-derivat und Cholesterinphosphomono- oder -oligoglycerin, Alkylphosphomono- oder -oligoglycerinen oder Alkylphosphoglycolen, in den genannten Molarverhältnissen sich leicht in einem wassermischbaren Alkohol, vorzugsweise einem physiologisch verträglichen Alkohol, lösen lässt. Das Mischungsverhältnis der Komponenten a), b) und c) zu Alkohol liegt bevorzugt im Bereich von 1 : 0,1 bis 500. Dieses resultierende Gemisch lässt sich dann einfach mit Wasser oder einer anderen wässrigen Flüssigkeit verdünnen und so auf jede beliebige gewünschte Konzentration bringen. Es ist so möglich Lösungen, insbesondere I.V.-Lösungen herzustellen, bei denen der Alkoholgehalt auf eine annehmbare Konzentration verringert ist. I.V.-Lösungen sollten nicht mehr als 3% und orale Lösungen nicht mehr als 10 % Ethanol enthalten.

Der Alkohol, ist bevorzugt ein wassermischbarer, physiologisch verträglicher Alkohol, der 2 bis 4 Kohlenstoffatome aufweist. Besonders geeignet sind Ethanol, 2-Propanol, 1,2-Propandiol und 2-Butanol oder Kombinationen davon. Am meisten bevorzugt, insbesondere für iv-Präparate, ist 1,2-Propandiol.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Arzneimittelformulierung, wobei man a) 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I



- 15 -

worin R^1 ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen, insbesondere mit 16 bis 24 C-Atomen ist, R^2 , R^3 und R^4 jeweils unabhängig H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder eine C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R^2 , R^3 und R^4 miteinander eine C_2 - C_5 -Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR^5 -Gruppe substituiert sein kann, worin R^5 H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder eine C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe ist, n eine ganze Zahl von 2 bis 4 ist, als Wirkstoff mit b) 10 bis 65 Mol-%, insbesondere mit 25 bis 65 Mol-% Cholesterin und c) 3 bis 30 Mol-%, insbesondere 5 bis 15 Mol-% eines Cholesterinphosphomono- oder -oligoglycerins, Alkylphosphomono- oder -oligoglycerins, Alkylphosphoglycols, Alkylphosphopropandiol-(1,3) oder/und Alkylphosphopropandiol-(1,2) mischt.

a), b) und c) ergeben zusammen bevorzugt 100 Mol-%. Bevorzugt legt man die Phospholipidverbindung in wässriger Lösung vor. Dem resultierenden Gemisch kann ein wassermischbarer, physiologisch annehmbarer Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen hinzugefügt werden, sodass die Komponenten einen in Wasser dispergierten oder dispergierbaren Komplex bilden.

Zur Durchführung des Verfahrens können also die Komponenten a), b) und c), wie oben definiert, in den genannten Molverhältnissen auf einfache Weise gemischt werden. Falls ein zusätzlicher Wirkstoff der erfindungsgemäßen Formulierung einverleibt werden soll, setzt man diesen vorzugsweise dem Gemisch von a), b) und c) zu. In einer bevorzugten Ausführungsform wird anschließend ein wassermischbarer Alkohol zugegeben, welcher ein physiologisch unbedenklicher Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen, insbesondere Ethanol, 2-Propanol, 1,2-Propandiol oder 2-Butanol ist. Da eine gewisse Menge des Alkohols in der fertigen Arzneimittelformulierung verbleiben kann, wird der Alkohol bevorzugt so ausgewählt, dass er sowohl für die orale als auch für die intravenöse Gabe geeignet ist. Besonders bevorzugt werden Ethanol, 1,2-Propandiol oder 2-

- 16 -

Propanol eingesetzt. Ethanol zeichnet sich durch geringe Toxizität und somit relativ gute physiologische Verträglichkeit aus, ist jedoch bei der Herstellung von erfindungsgemäßen Liposomen bzw. Komplexen, die relativ viel Cholesterin enthalten, nicht so gut geeignet, da sich Cholesterin in Ethanol nur in begrenztem Maß löst. Aus diesem Grund verwendet man in solchen Fällen bevorzugt 1,2-Propandiol, welches ebenfalls sehr wenig toxisch ist. Dabei können die lipidischen Bestandteile zunächst in Propandiol plus gegebenenfalls Chloroform und Wasser gelöst werden. Anschließend kann das Lösungsmittel(gemisch) abgezogen werden und die gebildeten Komplexe in 1,2-Propandiol gelöst werden. Eine weitere Möglichkeit, die Löslichkeit zu verbessern besteht darin, statt Cholesterin Cholesterinderivate zu verwenden, insbesondere Cholesterin-Phosphocholin (PC), welches in Ethanol gute Löslichkeitseigenschaften aufweist.

Die Zugabe des Alkohols zu dem Gemisch der Komponenten a), b) und c) kann bei Normaltemperatur (20 °C) aber auch bei einer erhöhten Temperatur erfolgen. Bevorzugt wird dabei auf 20 bis 85 °C erwärmt, stärker bevorzugt auf 60 bis 80 °C. Das Molverhältnis von Phospholipidverbindung : Alkohol beträgt 1 : 0,1 bis 500. Die Menge des zugegebenen Alkohols kann also über einen weiten Bereich variiert werden. Die optimale Menge des zugegebenen Alkohols kann innerhalb des hierin offenbarten Bereichs vom Fachmann leicht bestimmt werden. Bevorzugt sind insbesondere Verhältnisse von 1 : 50 bis 200.

Die Endkonzentrationen des in der erfindungsgemäßen Arzneimittel-formulierung vorhandenen Alkohols betragen zweckmäßig nicht mehr als 10 % für die orale Applikation und nicht mehr als 3 % für die intravenöse Applikation. In der fertigen Arzneimittelformulierung ist der Wirkstoff, d.h. die (Ether)-Lysolecithinverbindung bevorzugt in einer Menge von 0,1 bis 200 µmol/g enthalten.

Im so erhaltenen Gemisch liegt die Verbindung gemäß Formel I mit den anderen Bestandteilen als Komplex vor, welcher in Wasser dispergiert oder dispergierbar ist. Bevorzugt werden insbesondere bei Vorhandensein von weniger gut wasserlöslichen Phospholipidverbindungen (wie etwa solchen mit längeren Kohlenwasserstoffketten) die Komponente c) mit einer Überschussladung in solcher Menge hinzugefügt, dass der Komplex insgesamt eine positive oder negative Überschussladung aufweist. Das Gemisch kann somit leicht mit Wasser oder anderen wässrigen Flüssigkeiten verdünnt werden, insbesondere sind hierbei wässrige Flüssigkeiten bevorzugt, welche physiologisch verträglich sind. Unter wässrigen Flüssigkeiten werden insbesondere Flüssigkeiten mit einem Wasseranteil ≥ 60 Gew.-%, insbesondere ≥ 90 Gew.-% und speziell ≥ 95 Gew.-% Wasser verstanden.

Ein wesentlicher Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht darin, dass Liposome gegebenenfalls mit darin eingeschlossenen Wirkstoffen auf einfache Weise durch einfaches Zusammengeben der Bestandteile und z.B. Dispergieren in Wasser, gegebenenfalls in Gegenwart eines Alkohols erhalten werden können.

Ein weiterer Vorteil des durch das erfindungsgemäße Verfahren erhaltenen Gemisches ist, dass es problemlos sterilfiltriert werden kann. Dabei können Filter mit Porengrößen von $0,8 \mu$, $0,45 \mu$ und sogar $0,2 \mu$ verwendet werden. Bei Einsatz von Cholesterinphosphomono- oder -oligoglycerinen kann die Zubereitung auch hitzesterilisiert werden, z.B. bei Temperaturen ≥ 80 °C, insbesondere ≥ 90 °C und bevorzugt ≥ 95 °C. Zudem sind die Zusammensetzungen über einen weiten pH-Bereich (z.B. von pH 2 bis pH 10) stabil.

Die erfindungsgemäße Formulierung kann in flüssiger oder fester Form galenisch zubereitet werden. Besonders bevorzugt ist eine Formulierung zur intravenösen, subkutanen oder oralen Verabreichung. Eine topische

Verabreichung ist jedoch auch möglich. Für die orale Gabe ist es vorteilhaft, das wirksame Gemisch mit Wasser oder einer anderen physiologischen Flüssigkeit zu verdünnen, wobei eine 5- bis 150-fache Verdünnung sich als besonders geeignet erwiesen hat. Es kann jedoch
5 auch stärker verdünnt werden, denn selbst bei Verdünnungen von 1:1000 bis 1:10.000 bleibt der Komplex löslich, und es wurde kein Abscheiden von Komponenten in Form von Kristallen oder Präzipitaten beobachtet. Für eine I.V.-Applikation ist eine Injektion oder Infusion in einem Volumen von 50 bis 100 ml vorteilhaft, da auf diese Weise die Alkoholkonzentration bei
10 Ethanol leicht unter einen Wert von 1 Gew.-% gebracht werden kann. Bei dem bevorzugten 1,2-Propandiol muss die Alkoholkonzentration überhaupt nicht berücksichtigt werden, d.h.: die Alkoholkonzentration kann auch mehr als 3 Gew.-% betragen. Besonders geeignet sind Verdünnungen mit Wasser oder physiologischen wässrigen Lösungen von 1 : 5 bis 1 : 150,
15 bevorzugt 1 : 10 bis 1 : 20. Die Tagesdosis einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I beträgt 0,1 bis 100 $\mu\text{mol/kg}$ Körpergewicht, bevorzugt 1 bis 5 $\mu\text{mol/kg}$.

Durch die einfache Löslichkeit ist kein Einsatz von Überdruck für die
20 Herstellung der erfindungsgemäßen liposomalen Formulierungen notwendig, wie es sonst bei der Liposomenherstellung erforderlich ist. In der Regel genügt einfache Beschallung, unter Umständen reicht sogar Rühren aus. Damit vereinfacht und verbilligt sich das Herstellungsverfahren sehr. Außerdem können sterile Bedingungen durch das Lagern in entsprechend
25 konzentrierten alkoholischen Lösungen problemlos eingehalten werden. Diese Vorteile gelten auch, wenn zusätzlich ein weiterer Wirkstoff der Formulierung einverleibt wird.

Statt mit wässrigen Flüssigkeiten zu verdünnen, ist es auch möglich, die
30 erfindungsgemäße Arzneimittelformulierung in anderer Form, z.B. als Pulver, Tabletten, Kapseln oder auch als Salbe herzustellen. In diesem Fall wird der Alkohol bevorzugt in kleinerer Menge zugegeben als bei der

Herstellung der Formulierung zur Verwendung in flüssiger Form. Bevorzugt ist hier ein molares Mischungsverhältnis von Phospholipidverbindung : Alkohol von 1 : 5 bis 100. Gegebenenfalls kann der Alkohol aus dem Gemisch mindestens zum Teil wieder entfernt werden, um eine konzentrierte Formulierung zu erhalten. Dazu kann die Arzneimittelformulierung mit üblichen physiologisch verträglichen Füll-, Träger-, Verdünnungs- oder/und Hilfsstoffen vermischt werden und z.B. in Hohlzellen entsprechender Größe ausgegossen oder in Kapseln entsprechender Größe abgefüllt oder granuliert und dann gegebenenfalls unter Zusatz von weiteren üblichen Hilfsstoffen zu Tabletten verpresst werden. Die Formulierung kann beispielsweise mit einem oder mehreren der folgenden Hilfsstoffe gemischt werden: Stärke, Cellulose, Lactose, Formalin, Kasein, modifizierte Stärke, Magnesiumstearat, Calciumhydrogenphosphat, hochdisperse Kieselsäure, Talkum und Phenoxyethanol. Die erhaltene Mischung kann gegebenenfalls mit einer wässrigen Lösung aus beispielsweise Gelatine, Stärke, Polyvinylpyrrolidon, Vinylpyrrolidon-Vinylacetat-Copolymerisat oder/und Polyoxyethylensorbitatmonooleat granuliert und anschließend zu Tabletten verpresst oder in Kapseln abgefüllt werden.

Die erfindungsgemäßen Arzneimitteln Zubereitungen können insbesondere zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Protozoenerkrankungen eingesetzt werden. Es hat sich gezeigt, dass die liposomalen Zubereitungen hervorragende Wirksamkeiten gegen Protozoen- und davon hervorgerufene Erkrankungen aufweisen und insbesondere geeignet sind gegen Plasmodien und damit die Behandlung von Malaria, Trypanosomen und damit die Behandlung von Schlafkrankheit, Amöben, z.B. Endamöben und Acanthamöben, und damit die Behandlung von Amöbenruhr und Encephalitis und Leishmanien und damit die Behandlung von Leishmaniose. Besonders bevorzugt werden die Arzneimittelformulierungen zur Behandlung von Leishmaniose oder/und zur Behandlung von durch Amöben hervorgerufene Erkrankungen eingesetzt. Bei der Behandlung von

- 20 -

Leishmaniasis werden bevorzugt Formulierungen eingesetzt, welche als zusätzlichen Wirkstoff Amphotericin B enthalten.

Weiterhin hat sich gezeigt, dass die erfindungsgemäßen
5 Arzneimittelformulierungen hervorragende Antitumormittel darstellen. Sie können somit zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Krebs, insbesondere von Leukämie und soliden Tumoren eingesetzt werden.

Darüber hinaus können sie zur Stimulierung der Leukopoese sowie zur
10 Behandlung von Erkrankungen, die durch Arthropoden verursacht werden und von Akarinosis eingesetzt werden.

Überraschenderweise hat sich herausgestellt, dass die erfindungsgemäße Arzneimittelformulierung auch eine gute Wirksamkeit gegen Akarinosis,
15 insbesondere Räude und gegen durch Arthropoden sowie durch Ascariden, wie etwa Milben oder Zecken verursachte Erkrankungen aufweist.

Zusätzliche Wirkstoffe können diese Indikationen gewünschtenfalls fördern, ergänzen oder erweitern. Insbesondere ein Zusatz von Amphotericin B
20 zeigte eine synergistische Verstärkung der Wirksamkeit gegen Protozoenerkrankungen und eine Erweiterung auf systemische Pilzerkrankungen.

Weiterhin zeigen die erfindungsgemäßen Arzneimittelformulierungen auch
25 eine hervorragende Wirksamkeit gegenüber bakteriellen Erkrankungen. Sie können deshalb auch zur Behandlung oder/und Prophylaxe von bakteriellen Erkrankungen, insbesondere zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Ehrlichiose eingesetzt werden. Ehrlichiose ist eine bakterielle Erkrankung, die durch Zecken übertragen wird. Bei der Behandlung von Hunden mit
30 erfindungsgemäßen Arzneimittelformulierungen wurde eine deutliche Reduzierung des Ehrlichiosetiters festgestellt. Die Behandlung von Ehrlichiose kann in Kombination mit Tetracyclinen erfolgen.

- 21 -

Auch Augenerkrankungen, die mit zellulären Proliferationen einhergehen wie z.B. die proliferative Vitreoretinopathie oder Netzhautablösungen am Auge, die operativ nur schwer zu behandeln sind, und ebenfalls oftmals mit sehr stark proliferierenden Zellen einhergehen, können mit den erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen erfolgreich behandelt bzw. vermieden werden.

Insbesondere in Kombination mit Cyclosporin A können die Zubereitungen auch zur Immunsuppression eingesetzt werden.

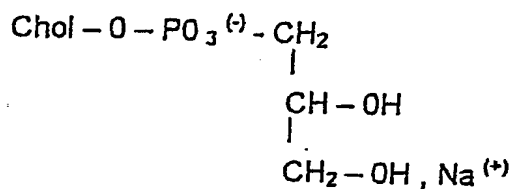
Die erfindungsgemäßen Liposome werden bevorzugt zur Behandlung von Säugetieren und am meisten bevorzugt zur Behandlung von Hunden oder Menschen eingesetzt.

Die Erfindung betrifft schließlich noch die als Bestandteil c) als negative Ladungsträger eingesetzten Cholesterinphosphoglycerin- und Cholesterinphosphooligoglycerinverbindungen. Diese Verbindungen sind im Stand der Technik nicht beschrieben und ermöglichen es, Liposomen bereitzustellen, welche hitzestabil und damit auch hitzesterilisierbar sind.

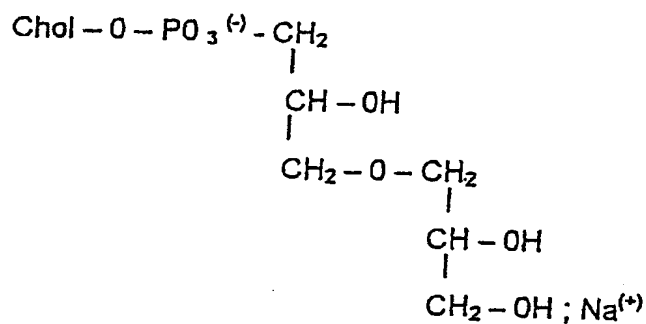
Die Cholesterinphosphoglycerin und Cholesterinphosphooligoglycerinverbindungen sind insbesondere bei Temperaturen $> 50^{\circ}\text{C}$, mehr bevorzugt $> 70^{\circ}\text{C}$, noch mehr bevorzugt $> 80^{\circ}\text{C}$ und insbesondere bei Temperaturen $> 90^{\circ}\text{C}$, noch mehr bevorzugt $> 95^{\circ}\text{C}$ stabil. Auf diese Weise ist es möglich, unter Verwendung dieser Verbindungen Liposome bereitzustellen, in denen alle Bestandteile über einen großen Temperaturbereich, beispielsweise von 0 bis 100°C stabil sind. Solche Liposomen können dann unter Verwendung von Hitze sterilisiert werden. Die erfindungsgemäßen Cholesterinphosphoglycerine umfassen insbesondere die folgenden Strukturen:

Cholesterinverbindungen als negative Ladungsträger

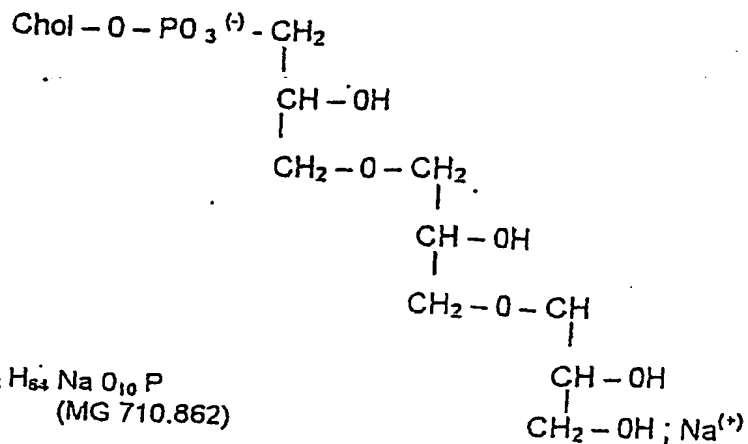
- 1) Chol - phospho - glycerin, Na
- ⁽⁺⁾
- Salz

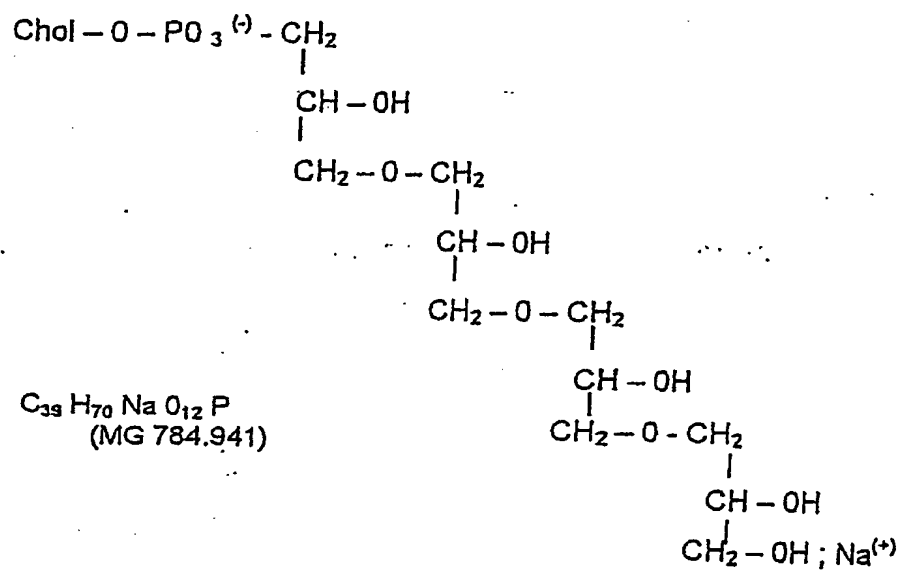
C₃₀ H₅₂ Na O₆ P (MG 562.704)

- 2) Chol - phospho - diglycerin, Na
- ⁽⁺⁾
- Salz

C₃₃ H₅₈ Na O₈ P (MG 636.783)

- 3) Chol - phospho - triglycerin, Na
- ⁽⁺⁾
- Salz

C₃₈ H₆₄ Na O₁₀ P
(MG 710.862)

4) Chol - phospho - tetraglycerin, Na⁽⁺⁾ - Salz

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung veranschaulichen.

Beispiele

Herstellung liposomaler Formulierungen ohne Ethanol

Allgemeine Richtwerte für die Einwaage:

	<u>Konzentration ($\mu\text{Mol/ml}$)</u>	<u>250 ml (μMol)</u>
Alkyl-PC (≤ 21 C-Atome)	45,0	11250
Cholesterin	47,5	11875
Cholesterinphospho- glycerin (Na^+ -Salz)	7,5	1875
	<hr/> 100,0	<hr/> 25000
Lipidgehalt:	100 $\mu\text{Mol/ml}$	
C Gesamtlipid:	0,1 <u>M</u>	
C Wirkstoff:	0,045 <u>M</u>	

Beispiel 1 Octadecyl-1-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	(μ Mol)	μ Mol/ml
Octadecyl-1-PC	11299	45,2
Cholesterin	12370	49,5
Cholesterinphospho-	2127	8,5
glycerin		
(Na ⁺ -Salz)		
	25796	103,2

Die Einwaage der Komponenten wird in einem 1 l Rundkolben mit 100 ml 2-Propanol, 50 ml CHCl₃ und 1 ml H₂O versetzt und bei 50 °C in Lösung gebracht. Nachdem alles gelöst ist, wird das Lösungsmittel im Vakuum bei 30 bis 35 °C entfernt. Restlösungsmittel wird im Trockenschrank im Vakuum bei 30 °C über einen Zeitraum von 30 Minuten entfernt. Der trockene Rückstand wird mit 225 ml einer 0,25 M Lösung von 1,2-Propandiol (MH 76,10) versetzt und am Rotationsverdampfer unter Rotieren auf 50 °C erwärmt. Man beschallt unter Rotieren bei 50 °C für 15 Minuten, stoppt 2 Minuten und wiederholt den Beschallungsvorgang noch zweimal. Dann ist die Suspension einheitlich. Sie lässt sich leicht durch einen Glasfilter und dann durch einen 0,8 μ Filter filtrieren. Die so erhaltenen Liposomen sind bei 4 °C über mindestens 12 Monate stabil. Entsprechende Lösungen wurden auch mit Hexadecyl-PC, Heptadecyl-PC und Nonadecyl-PC erhalten.

- 26 -

Beispiel 2 Arachinyl-1-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	(μ Mol)	μ Mol/ml
5		
Arachinyl-1-PC	11 464	45.9
Cholesterin	12 880	51.5
Cholesterinphospho-	2 133	8,5
glycerin (CPG)		
10	(Na ⁺ -Salz)	
	26 477	105.9

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 3 Oleyl-1-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	(μ Mol)	μ Mol/ml
20		
Oleyl-1-PC	11 626	46.5
Cholesterin	12 303	49.2
CPG	1 951	7.8
(Na ⁺ -Salz)		
	25 880	103.5

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 4 (Z)-10-Nonadecenyl-1-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	(μ Mol)	μ Mol/ml
(Z)-10-Nonadecenyl-1-PC	12 223	48.9
Cholesterin	12 861	51.4
CPG	2 066	8.3
(Na ⁺ -Salz)		
	27 150	108.6

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 5 (Z)-10-Eicosenyl-1-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	(μ Mol)	μ Mol/ml
(Z)-10-Eicosenyl-1-PC	11 198	44.8
Cholesterin	12 450	49.8
CPG	2 011	8.0
(Na ⁺ -Salz)		
	25 569	102.6

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 6 (Z)-10-Heneicosenyl-1-PC: Volumen 250 ml

5		Einwaage	
		<u>(μMol)</u>	<u>μMol/ml</u>
	(Z)-10-Henico- senyl-1-PC	10 709	42.8
	Cholesterin	12 378	49.5
	CPG	1 905	7.6
10	(Na ⁺ -Salz)		
		<hr/> 24 992	<hr/> 99.9

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

15

Allgemeine Richtwerte für die Einwaage:

	<u>Konzentration (μMol/ml)</u>	<u>250 ml (μMol)</u>
Alkyl-PC	55.0	13 750
20 (≥ 22 C-Atome)		
Cholesterin	37,5	9 375
CPG	7,5	1 875
(Na ⁺ -Salz)		
	<hr/> 100,0	<hr/> 25.000

25

Lipidgehalt: 100 μ Mol/ml
 C Gesamtlipid: 0,1 M
 C Wirkstoff: 0,055 M

30

- 29 -

Beispiel 7 Erucyl-PC: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	<u>(μMol)</u>	<u>μMol/ml</u>
5 Erucyl-PC	11 272	45.1
Cholesterin	7 526	30.1
1,2-Dioleoyl-sn-	1 506	6,0
G-3-PG		
10 (Na ⁺ -Salz)		
	20 304	81.2

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 8 Erucyl-1-P-(CH₂)₃-C: Volumen 250 ml

	Einwaage	
	<u>(μMol)</u>	<u>μMol/ml</u>
20 Erucyl-1-P-(CH ₂) ₃ -C	12 129	48.5
Cholesterin	6 559	26.2
CPG	1 506	6.0
(Na ⁺ -Salz)		
	20 194	80.7

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

- 30 -

Beispiel 9 (Z,Z)-6.15-Tetracosadienyl-t-PC: Volumen 250 ml

5		Einwaage	
		(μ Mol)	μ Mol/ml
	(Z,Z)-6.15-Tetra-	15 531	62.1
	cosadienyl-1-PC		
	Cholesterin	10 888	43.6
	CPG	2 120	8,5
10	(Na ⁺ -Salz)		
		28 539	114.2

Das Lipidgemisch, wird wie in Beispiel 1 behandelt und in eine liposomale Formulierung gebracht.

Beispiel 10Einwaage

20	Substanz	mMol
	Amphotericin B x 1 HCl	538
	Erucyl-PC	3997
	Cholesterin	4513
25	Cholesterinphosphodiglycerin; Na ⁺ (CPDG)	1015

Das Substanzgemisch wird in 2-Propanol in der Wärme gelöst, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird mit 100 ml 0,275 M Propandiol-(1,2) versetzt;

- Tempern, 10 Minuten bei 55 °C
- Ultraschall, 50 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C

- 31 -

- Ultraschall, 100 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C

Man filtriert die Dispersion durch einen Glasfaserfilter. Danach kann das Filtrat problemlos steriltfiltriert (Filter 0,45 μm , 0,20 μm) oder/und
5 hitzesterilisiert werden.

Gehalt: Amphotericin B, 5 mg/ml
Erucyl-PC, 40 $\mu\text{mol/ml}$

10 Beispiel 11

Einwaage

Substanz	mMol
Amphotericin B x 1 HCl	930
Erucyl-PC	4274
Cholesterin	4570
CPDG; Na ⁺	1002

20 Das Substanzgemisch wird in 2-Propanol in der Wärme gelöst, filtriert und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird mit 100 ml 0,275 M Propandiol-(1,2) versetzt;

- 25 - Tempern, 10 Minuten bei 55 °C
- Ultraschall, 50 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C
- Ultraschall, 100 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C

30 Man filtriert die Dispersion durch einen Glasfaserfilter. Danach kann das Filtrat problemlos steriltfiltriert (Filter 0,45 μm , 0,20 μm) oder/und hitzesterilisiert werden.

- 32 -

Gehalt: Amphotericin B, 9 mg/ml
Erucyl-PC_{H3}, 40 µmol/ml

*Erucyl-PC_{H3} ist ein Phosphocholin mit auf 3 C-Atome erweitertem
6 Phospho-Trimethylammoniumabstand:

Beispiel 12

Einwaage

Substanz	mMol
Amphotericin B x 1 HCl	500
Erucyl-PC _{H3}	4572
15 Cholesterin	4626
CPG; Na ⁺	956

Das Substanzgemisch wird in 2-Propanol in der Wärme gelöst, filtriert und
im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird mit 100 ml
20 0,275 M Propandiol-(1,2) versetzt;

- Tempern, 10 Minuten bei 55 °C
- Ultraschall, 50 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C
- Ultraschall, 100 % Leistung - 15 Minuten bei 55 °C

25 Man filtriert die Dispersion durch einen Glasfaserfilter. Danach kann das
Filtrat problemlos sterilfiltriert werden (Filter 0,45 µm, 0,20 µm) oder/und
hitzesterilisiert werden.

30 Gehalt: Amphotericin B, 4,8 mg/ml
Erucyl-PC_{H3}, 45 µmol/ml

- 33 -

*Erucyl-PC_{H3} ist ein Phosphocholin mit auf 3 C-Atome erweitertem Phospho-Trimethylammoniumabstand.

Beispiel 136 Allgemeine Richtwerte für die Einwaage

	Konzentration (mMol/l)
Alkyl - PC (≤ 21 C-Atom)	30 - 45
10 Cholesterin	30 - 60
Cholesterinphosphoglycerin (Na ⁽⁺⁾ -Salz)	3 - 30
15 oder	
Alkylphosphoglycerin (Na ⁽⁺⁾ -Salz)	
20 oder	
Alkylphosphoglycol (Na ⁽⁺⁾ -Salz)	
25	
	Einwaage (mMol/l = mM)
<u>Octadecylphosphocholin</u>	
C _{18:0} -PC	44
30 Cholesterin	48
C _{18:0} -P-Glycol	<u>8</u>
	100
35 Arachinyl-PC	
C _{20:0} -PC	42
Cholesterin	45
C _{20:0} -PG	<u>6</u>
40	93

- 34 -

Oleyl-PC

	C _{18:1} -PC	37
5	Cholesterin	40
	C _{18:1} -P-Glycol	<u>7</u>
		84

10

Linoleyl-PC

	C _{18:2} -PC	40
	Cholesterin	40
15	C _{18:2} -P-Glycol	<u>7</u>
		87

20

Linolenyl-PC

	C _{18:3} -PC	40
	Cholesterin	40
25	C _{18:3} -P-Glycol	<u>5</u>
		85

Z-10-Nonadecenylphosphocholin

30	C _{19:1} -PC	35
	Cholesterin	40
	C _{19:1} -P-Glycol	<u>6</u>
		81

35

(Z)-10-Eicosenylphosphocholin

	C _{20:1} -PC	35
40	Cholesterin	35
	C _{20:1} -PG	<u>5</u>
		75

45

- 35 -

(Z)-10-Heicosenylphosphocholin

5	C _{21:1} -PC	35
	Cholesterin	30
	C _{21:1} -P-Glycol	<u>5</u>
		70

10

Beispiel 14Allgemeine Richtwerte für die Einwaage

15	Alkyl-PC (≥ 22 C-Atome)	30 - 55
----	----------------------------------	---------

	Cholesterin	10 - 40
--	-------------	---------

20	Cholesterinphosphoglycerin (Na ⁽⁺⁾ -Salz)
----	---

oder

25	Alkylphosphoglycerin (Na ⁽⁺⁾ -Salz)
----	---

oder

30	Alkylphosphoglycol (Na ⁽⁺⁾ -Salz)
----	---



3 - 30

35

Einwaage
(mMol/l = mM)Erucylphosphocholin

40

	C _{22:1} -PC	45
	Cholesterin	30
	C _{22:1} -PG	<u>6</u>
		81

45

- 36 -

Erucylphospho-(N,N,N-trimethyl)-propylammonium

	C _{22:1} -PC _{H3}	50
	Cholesterin	25
5	C _{22:1} -PG	<u>5</u>
		60

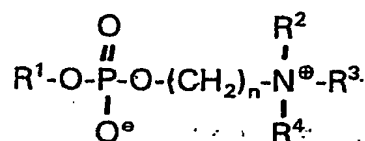
(Z,Z)-6,15-Tetracosadienylphosphocholin

10	C _{24:2} -PC	60
	Cholesterin	20
	C _{24:2} -PG	<u>5</u>
		85
15		

Ansprüche

1. Arzneimittelzubereitung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 - 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

n eine ganze Zahl von 2 bis 6,

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-% und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativen Ladungsträgers ausgewählt aus Cholesterylphosphoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2), gegebenenfalls zusammen mit einem pharmakologisch geeigneten Träger oder/und Verdünnungsmittel.

2. Arzneimittelformulierung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,
dass sie eine Verbindung der Formel I enthält, worin R¹ ein Kohlenwasserstoffrest mit 18 bis 22 C-Atomen ist.

5 3. Arzneimittelformulierung nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass R¹ ein C₁₆- bis C₂₄-Alkylrest oder ein C₁₅- bis C₂₄-Alkenylrest,
insbesondere ein Hexadecyl-, Octadecyl-, Oleyl-, Elaidyl-, Eicosyl-,
Eicosenyl-cis-(ω -9)-, Heneicosyl-, Heneicosenyl-, Docosyl- oder
10 Docosenylrest oder ein C₁₅- bis C₂₄-Alkadienylrest ist.

4. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden
Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
15 dass R¹ ein doppelt ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit cis-
Doppelbindungen in nicht konjugierter Position ist.

5. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden Ansprüche
dadurch gekennzeichnet,
20 dass R², R³ und R⁴ ein Methylrest sind.

6. Arzneimittelzubereitung nach einem der vorhergehenden Ansprüche
dadurch gekennzeichnet,
25 dass n = 2 ist.

7. Arzneimittelzubereitung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Komponenten a), b) und c) zusammen 100 Mol-% ergeben.

30 8. Arzneimittelzubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,

dass der negative Ladungsträger ausgewählt ist aus Cholesterinphosphomonoglycerin, Cholesterinphosphodiglycerinen, Cholesterinphosphotriglycerin und Cholesterinphosphotetraglycerin.

5 9. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden Ansprüche
dadurch gekennzeichnet,
dass sie in einer durch Verdünnung mit Wasser oder mit einer wäss-
rigen physiologischen Flüssigkeit erhaltenen zur Verabreichung
geeigneten Konzentration vorliegt.

10 10. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden Ansprüche.
dadurch gekennzeichnet,
dass sie die Verbindung der Formel I in einer Menge von 0,1 bis 200
 $\mu\text{mol/g}$ enthält.

15 11. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden
Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Bestandteil b) Cholesterin im Verhältnis zur
20 Phospholipidverbindung in einem molaren Überschuss vorhanden ist,
wenn R^1 15 bis 21 C-Atome enthält oder in einem molaren
Unterschuss vorhanden ist, wenn R^1 22 bis 26 C-Atome enthält.

25 12. Arzneimittelformulierung nach einem der vorhergehenden Ansprüche
dadurch gekennzeichnet,
dass sie in einer zur intravenösen Verabreichung geeigneten Form
vorliegt.

30 13. Arzneimittelzubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie in einer zur oralen Verabreichung geeigneten Form vorliegt.

14. Arzneimittelzubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie in einer zur subkutanen Verabreichung geeigneten Form vor-
liegt.

5

15. Arzneimittelzubereitung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie weiterhin einen Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen enthält.

10

16. Arzneimittelzubereitung nach Anspruch 15,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Alkohol Ethanol, 1,2-Propandiol, 2-Propanol oder 2-Butanol
ist.

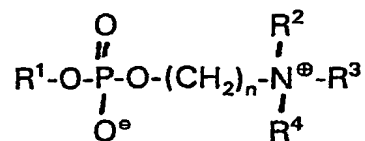
15

17. Arzneimittelzubereitung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Komponenten a), b) und c) als in Wasser dispergierter Kom-
plex vorliegen.

20

18. Verfahren zur Herstellung einer Arzneimittelformulierung nach einem
der Ansprüche 1 bis 17,
dadurch gekennzeichnet,
dass man a) 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der
Formel I:

25



30

worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest
mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

- 41 -

R^2 , R^3 und R^4 jeweils unabhängig H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder eine C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R^2 , R^3 und R^4 miteinander eine C_2 - C_5 -Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR^5 -Gruppe substituiert sein kann, worin R^5 H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe ist,

n eine ganze Zahl von 2 bis 4 ist als Wirkstoff,

mit b) 10 bis 65 Mol-% Cholesterin und/oder einem Cholesterinderivat und c) 3 bis 30 Mol-% eines Cholesterylphosphomono- oder -oligoglycerins eines Alkylphosphomonoglycerins, eines Alkylphosphooligoglycerins, eines Alkylphosphoglykols, Alkylphosphopropandiol-(1,3) oder/und Alkylphosphopropandiol-(1,2) mischt.

19. Verfahren nach Anspruch 18,

dadurch gekennzeichnet,
dass a), b) und c) zusammen 100 Mol-% ergeben.

20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19,

dadurch gekennzeichnet,
dass man den Wirkstoff in wässriger Lösung vorlegt.

21. Verfahren nach Anspruch 18, 19 oder 20,

dadurch gekennzeichnet,
dass man weiterhin dem resultierenden Gemisch einen wassermischbaren, physiologisch annehmbaren Alkohol mit 2 bis 4 C-Atomen hinzufügt, sodass die Komponenten einen in Wasser dispergierten Komplex bilden.

22. Verfahren nach Anspruch 21,

dadurch gekennzeichnet,

- 42 -

dass man als Alkohol Ethanol, 1,2-Propandiol, 2-Propanol oder 2-Butanol verwendet.

23. Verfahren nach Anspruch 21 oder 22,

dadurch gekennzeichnet,

dass man den Alkohol unter Erwärmen auf 20 °C bis 85 °C hinzufügt.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 23,

dadurch gekennzeichnet,

dass man als Bestandteil c) Cholesterinphosphoglycerin oder Cholesterinphosphooligoglycerine mit 1 bis 4 Glycerineinheiten verwendet.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 24,

dadurch gekennzeichnet,

dass man die Formulierung mit Wasser oder einer wässrigen physiologischen Flüssigkeit auf eine zur Verabreichung geeignete Konzentration verdünnt.

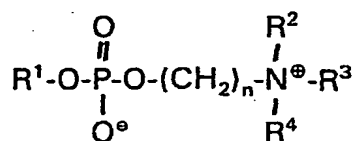
26. Verfahren nach einem der Ansprüche 18 bis 25,

dadurch gekennzeichnet,

dass man die Formulierung durch einen 0,8 µm-, 0,45 µm- oder 0,2 µm-Filter steril filtriert oder/und hitzesterilisiert.

27. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

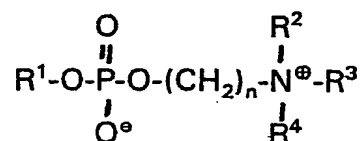
n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativer Ladungsträger ausgewählt aus Cholesterylphosphoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen und Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Stimulierung der Leukopoese oder/und zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Acarinosis oder von durch Arthropoden verursachten Erkrankungen.

28. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R^1 ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R^2 , R^3 und R^4 jeweils unabhängig H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder eine C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R^2 , R^3 und R^4 miteinander eine C_2 - C_6 -Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR^5 -Gruppe substituiert sein kann, worin R^5 H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe ist,

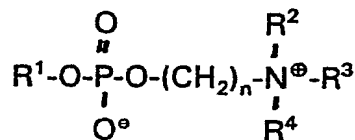
n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-% und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativer Ladungsträger ausgewählt aus Cholesterylphosphoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen und Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Tumorerkrankungen.

29. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R^1 ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R^2 , R^3 und R^4 jeweils unabhängig H, eine C_1 - C_5 -Alkylgruppe, eine C_3 - C_6 -Cycloalkylgruppe oder eine C_1 - C_5 -Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R^2 , R^3 und R^4 miteinander eine

- 45 -

C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

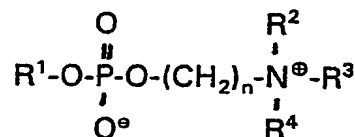
b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativer Ladungsträger ausgewählt aus Cholesterylphosphoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen und Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Protozoenerkrankungen.

30. Verwendung nach Anspruch 29 zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Leishmaniosen oder/und Amöbenerkrankungen.

31. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵

- 46 -

H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

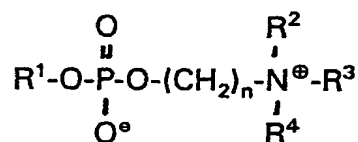
n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativer Ladungsträger ausgewählt aus Cholesterylphosphoglycerin, Cholesterylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen und Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von durch Ascariden, insbesondere Milben oder Zecken, verursachten Erkrankungen, insbesondere von Räude.

32. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

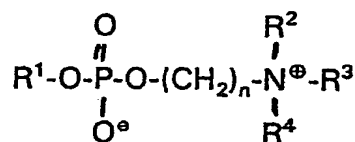
- 47 -

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, und
 c) 3 bis 30 Mol-% eines negativen Ladungsträgers ausgewählt aus der Gruppe der Phosphatidylmono-, di-, tri- oder tetra-glycerine oder der Cholesterinphosphoglycerine oder der Cholesterinphosphooligoglycerine oder der Alkylphosphoglycerine oder Alkylphosphooligoglycerine, oder Alkylphosphoglycole oder der Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2)

gegebenenfalls zusammen mit einem pharmakologisch geeigneten Träger oder/und Verdünnungsmittel zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von bakteriellen Erkrankungen, insbesondere von Ehrlichiose.

33. Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend

a) als Wirkstoff 30 bis 60 Mol-% einer Phospholipidverbindung der Formel I:



worin

R¹ ein gesättigter oder ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 15 bis 24 C-Atomen ist,

R², R³ und R⁴ jeweils unabhängig H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder eine C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe sind, wobei zwei von R², R³ und R⁴ miteinander eine C₂-C₅-Alkylengruppe bilden können, die gegebenenfalls mit einer -O-, -S- oder NR⁵-Gruppe substituiert sein kann, worin R⁵ H, eine C₁-C₅-Alkylgruppe, eine C₃-C₆-Cycloalkylgruppe oder C₁-C₅-Hydroxyalkylgruppe ist,

n eine ganze Zahl von 2 bis 6 ist,

- 48 -

b) Cholesterin zu 10 bis 65 Mol-%, und

c) 3 bis 30 Mol-% eines negativer Ladungsträger ausgewählt aus der Gruppe der Phosphatidylmono-, di-, tri- oder tetra-glycerine oder der C h o l e s t e r i n p h o s p h o g l y c e r i n e oder der Cholesterinphosphooligoglycerine oder der Alkylphosphoglycerine oder Alkylphosphooligoglycerine, oder Alkylphosphoglycole, oder der Alkylphosphopropandiolen-(1,3) oder Alkylphosphopropandiolen-(1,2)

gegebenenfalls zusammen mit einem pharmakologisch geeigneten Träger oder/und Verdünnungsmittel zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung oder/und Prophylaxe von Augenerkrankungen, die mit zellulären Proliferationen einhergehen, insbesondere von Netzhautablösungen.

34. Verwendung nach einem der Ansprüche 32 oder 33, dadurch gekennzeichnet, dass das Phosphatidylmono- oder -oligoglycerin Fettsäurereste mit 12 bis 30 C-Atomen und insbesondere mindestens einen Oleylrest umfasst.

35. Verwendung nach einem der Ansprüche 27 bis 34 zur Herstellung eines Arzneimittels zur intravenösen, oralen, subkutanen oder topischen Verabreichung.

36. Verwendung nach einem der Ansprüche 27 bis 35 zur Herstellung eines Arzneimittels, welches zusätzlich einen weiteren Wirkstoff, insbesondere Amphotericin B, Oxytetracyclin, Doxycyclin, Minocyclin, Griseofulvin oder Cyclosporin enthält.

37. Verbindung, ausgewählt aus Cholesterinphosphomonoglycerin, Cholesterinphosphodiglycerin, Cholesterinphosphotriglycerin und Cholesterinphosphotetraglycerin.